

Cell Stem Cell, 2009, 5(2): 135-138.

[8] Placantonakis DG, Tomishima MJ, Lafaille F, et al. BAC transgenesis in human embryonic stem cells as a novel tool to define the human neural lineage[J]. Stem Cells, 2009, 27(3): 521-532.

[9] Hockemeyer D, Soldner F, Beard C, et al. Efficient targeting of expressed and silent genes in human ESCs and iPSCs using zinc-finger nucleases[J]. Nat Biotechnol, 2009, 27(9): 851-857.

[10] Boland MJ, Hazen JL, Nazor KL, et al. Adult mice generated from induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2009, 461(7250): 91-94.

[11] Stadtfeld M, Apostolou E, Akutsu H, et al. Aberrant silencing of imprinted genes on chromosome 12qF1 in mouse induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2010, 465(7254): 175-81.

[12] Kang L, Wu T, Tao Y, et al. Viable mice produced from three-factor induced pluripotent stem (iPS) cells through tetraploid complementation[J]. Cell Res, 2011, 21(3): 546-549.

[13] Liu L, Luo GZ, Yang W, et al. Activation of the imprinted Dlk1-Dio3 region correlates with pluripotency levels of mouse stem cells[J]. J Biol Chem, 2010, 285(25): 19483-19490.

[14] Chin MH, Pellegrini M, Plath K, et al. Molecular analyses of human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells[J]. Cell Stem Cell. 2010, 7(3): 263-269.

[15] Ghosh Z, Wilson KD, Wu Y, et al. Persistent donor cell gene expression among human induced pluripotent stem cells contributes to differences with human embryonic stem cells[J]. PLoS One, 2010, 5(2): 8975.

[16] Guenther MG, Frampton GM, Soldner F, et al. Chromatin structure and gene expression programs of human embryonic and induced pluripotent stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(2): 249-257.

[17] Newman AM, Cooper JB. Lab-specific gene expression signatures in pluripotent stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(2): 258-262.

[18] Lister R, Pelizzola M, Kida YS, et al. Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2011, 471(7260): 68-73.

[19] Kim K, Doi A, Wen B, et al. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2010, 467(7266): 285-290.

[20] Polo JM, Liu S, Figueroa ME, et al. Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells[J]. Nat Biotechnol, 2010, 28(8): 848-855.

[21] Hanna JH, Saha K, Jaenisch R. Pluripotency and cellular reprogramming: facts, hypotheses, unresolved issues[J]. Cell, 2010, 143(3): 508-525.

[22] Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors[J]. Cell, 2010, 142(5): 375-386.

[23] Szabo E, Rampalli S, Risueno RM, et al. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors[J]. Nature, 2010, 468(7323): 521-526.

[24] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors[J]. Nature, 2010, 463(7318): 1035-1041.

[25] Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(5): 618-630.

[26] Hu BY, Weick JP, Yu J, et al. Neural differentiation of human induced pluripotent stem cells follows developmental principles but with variable potency[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(9): 4335-4040.

[27] Bock C, Kiskinis E, Verstappen G, et al. Reference Maps of human ES and iPS cell variation enable high-throughput characterization of pluripotent cell lines[J]. Cell, 2011, 144(3): 439-452.

(收稿日期: 2015-02-25)

• 综 述 •

妊娠相关血浆蛋白 A 的临床价值应用

王 杨 综述, 胡志东 审校
(天津医科大学总医院检验科, 天津 300052)

关键词: 妊娠相关血浆蛋白 A; 妊娠早期; 唐氏综合征; 妊高征; 心血管疾病
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 12. 050 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2015)12-1756-03

妊娠相关血浆蛋白 A(PAPP-A)是一种大分子糖蛋白,是由 Lin 等^[1]在 1974 年首次从孕妇血清中分离纯化,妊娠期由胎盘合体滋养层细胞及蜕膜细胞分泌。该蛋白质也有其他名称:妊娠特异性 $\alpha 2$ 迁移蛋白、人精浆免疫抑制物、男性抑制物等,但以 PAPP-A 最常用。PAPP-A 在妇产科的广泛研究和应用已被广泛公认,近些年来有大量研究显示,血清 PAPP-A 水平的升高与心脑血管等其他疾病也有着非常密切的联系。

1 PAPP-A 的生物学特性

PAPP-A 是妊娠期由胎盘合体滋养层细胞及蜕膜细胞分泌的一种大分子糖蛋白,正常月经周期子宫内膜间质细胞也能合成并分泌到血清中,其相对分子质量为 750 000~820 000, PAPP-A 基因定位于人类染色体 9q33. 1。正常妊娠妇女在末

次月经后 5 周时,血清中即可检测出 PAPP-A,从第 7 周开始其浓度随着妊娠周数的增加而呈上升趋势直至足月,正常分娩后很快消失。然而 PAPP-A 并不仅仅只是妊娠的特异性蛋白,在非妊娠妇女或男性也可以检测到 PAPP-A。PAPP-A 的等电点为 4. 4; 0℃ 时性质稳定。60℃ 条件下,在 30 min 以内可不被破坏,70℃ 时部分被破坏;pH 值为 4~10 时性质稳定, pH<2 或 pH>10 时完全被破坏;胰蛋白酶能部分破坏纯化的 PAPP-A 活性,蛋白酶也可破坏其免疫反应性,但核酸酶、脱氧核糖核酸酶不能使其失活。PAPP-A 在 4℃ 及 pH 为 7. 1 的条件下可在 1/3 饱和度的硫酸胺溶液中溶解。妊娠妇女血清中 PAPP-A 为异源四聚体,以 2:2 复合体形式存在,它由 2 个 PAPP-A 分子和 2 个嗜伊红主要碱性蛋白前体(proMBP)组

作者简介:王杨,女,主管技师,主要从事生化检验方面的研究。

成,称为 PAPP-A/ProMBP;ProMBP 是内源性 PAPP-A 活性的抑制剂,ProMBP 的基因位于人类第 11 号染色体。而非妊娠妇女血清中 PAPP-A 以同型二聚体形式存在。PAPP-A 属于一种胰岛素样生长因子结合蛋白 4(IGFBP4)相关蛋白酶。

2 PAPP-A 的检测方法

2.1 电泳法 1974 年 Lin 等^[1]首先采用交叉免疫电泳法检测妊娠血清 PAPP-A。而随后开发的火箭免疫电泳法和放射火箭免疫电泳法仅适用于孕晚期测定,且灵敏度低,加之特异度和重复性的局限而被其他方法取代。

2.2 放射免疫法 1982 年有研究者建立放射免疫法(RIA)检测孕早期血清 PAPP-A,该法在单胎受精后 32 d 和双胎受精后 21 d 即可在孕妇血清中检测出 PAPP-A,其最低检出浓度为 2.9 $\mu\text{g/L}$,灵敏度最高。1986 年研究者建立了双位点免疫放射分析法(IRMA),由于采用单克隆抗体,其特异度高于 RIA。但由于放射性污染和对设备的特殊要求,一般实验室很难开展。

2.3 酶联免疫法 1995 年有研究者建立酶联免疫吸附法(ELISA)测定孕早期血清 PAPP-A,与 RIA 相比,灵敏度相当,而且 PAPP-A 抗原不需要纯化,标记抗体能够性质稳定地在 20 $^{\circ}\text{C}$ 下保存,且有效期长,无放射性污染,操作简便。然而其酶标记物不稳定,受环境温度和酸碱度变化影响较大,而且大部分底物为有毒物质或致癌物,所以 ELISA 并不是血清 PAPP-A 的最佳检测方法。

2.4 时间分辨荧光免疫法 1996 年有研究者发明时间分辨荧光免疫(TrIFMA)法,该法灵敏度高,测量范围广泛,使用的是多克隆 PAPP-A 抗体。1997 年研究者又开发了一种多重克隆荧光免疫分析法,能够特异检测 PAPP-A/ProMBP 复合物中的 PAPP-A 部分。随后其开发的双位点、快速一步分析法应用的是两个单克隆 PAPP-A 抗体,采用稳定的荧光螯系螯合物和时间分辨荧光测量计,反应一步完成,分析快速,故适用于 PAPP-A 的临床实验室的检测推广。

2.5 固相酶联免疫法 2010 年李灵俊等^[2]以生物素化牛血清清蛋白-链霉素和素间接包被微孔板,将标记有生物素的抗 PAPP-A 抗体作为捕获抗体,结合标本中的抗原成分;标记有辣根过氧化物酶的抗 PAPP-A 抗体作为检测抗体,经酶催化底物显色,定量测定人体外周血 PAPP-A。这种采用间接包被技术所建立的人外周血 PAPP-A 固相酶联免疫测定方法灵敏、可靠、稳定性好,与国外同类方法的试剂盒之间相关性较高。

3 PAPP-A 的临床应用

3.1 PAPP-A 与正常妊娠 PAPP-A 是一种与妊娠相关联的大分子糖蛋白,妊娠第 5 周开始即可检出孕妇血清中的 PAPP-A,孕早期其浓度上升比人绒毛膜促性腺激素(HCG)显著,随孕周增加呈现明显上升趋势,直至孕末期达高峰,产后开始下降,半衰期约 3~4 d,至产后 6 周血清中即测不到。不同于其他胎盘蛋白如人胎盘生乳素(HPL)、妊娠特意糖蛋白 1(SP1),孕 34~36 周胎盘生长停止后 PAPP-A 水平持续升高,并且胎盘后血管内 PAPP-A 水平低于子宫静脉血内 PAPP-A 水平,孕末期蜕膜组织中 PAPP-A 水平比滋养层组织内 PAPP-A 水平高 3 倍,这些发现均证实了其蜕膜来源、羊水中 PAPP-A 水平变化规律同母血,但是脐血与胎儿体内未能检测出 PAPP-A。PAPP-A 不经肾脏排泄,所以整个孕期,孕妇尿中检测不到 PAPP-A。PAPP-A 可作为早孕的诊断指标及孕期胎儿健康状况的监测指标,孕妇血清 PAPP-A 水平与胎盘

重置及胎儿体质量呈正相关,双胎妊娠时血清 PAPP-A 浓度明显高于单胎妊娠者,因此,检测血清 PAPP-A 水平对于了解胎盘功能,孕期胎儿宫内发育状况的监测以及双胎妊娠的早期诊断方面都具有一定价值。

3.2 PAPP-A 与异位妊娠和流产 由于异位妊娠时滋养细胞功能降低,胚胎着床的位置血循环不如子宫内膜丰富,影响了 PAPP-A 的产生和分泌,导致血清 PAPP-A 浓度低于正常妊娠时,提示 PAPP-A 的测定在早期诊断和鉴别诊断异位妊娠患者中具有一定价值^[3]。刘杰等^[4]通过对 200 例可疑异位妊娠患者的研究表明,异位妊娠组患者血清 PAPP-A 亚基 SPP-A 水平低于宫内妊娠组,孕周不同 SPP-A 水平不同,差异均有统计学意义($P<0.05$)。马赞等^[5]应用 ELISA 双抗体夹心酶联免疫方法测定孕 5~7 周正常妊娠组 75 例和输卵管妊娠组 68 例孕妇血清 PAPP-A 水平,结果显示,血清 PAPP-A 水平在正常妊娠组不同孕周间差异有统计学意义($P<0.01$),随孕周增加而增加,且增幅较大,孕 7 周时比孕 5 周时高约 18 倍。而输卵管妊娠组血清 PAPP-A 水平随孕周增加无显著变化,各孕周间差异无统计学意义($P>0.05$)。同孕周间两组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。研究还发现,低水平的 PAPP-A 是早期不良胎盘形成而导致妊娠相关并发症的独立危险因素^[6]。由于孕妇血清 PAPP-A 水平与胎盘大小及功能有关,通过血清中 PAPP-A 水平变化可监测胎盘发育情况和胎儿在宫内的发育状况,故对预测早期先兆流产有一定意义,即 PAPP-A 水平越低,最终发展成为难免流产的可能性越大^[3]。另外,复发性流产孕妇蜕膜组织中 PAPP-A 表达水平明显降低,是复发性流产的危险因素,PAPP-A 可作为临床诊断复发性流产的辅助诊断指标^[7]。因此,血清 PAPP-A 的测定在判断异位妊娠和先兆流产及其预后方面都有非常重要的意义,有利于早期妊娠的管理。

3.3 PAPP-A 与早产和死产 妊娠早期低水平的 PAPP-A 与早产相关联。有研究者对 2231 例患者进行了一个 5 年回顾性的队列研究发现,当血清 PAPP-A ≤ 0.1 MoM 时,与小于 35 周的早产风险性增加有关,但还不足以预测用于临床,有待进一步研究^[8]。陈霞等^[9]采用 ELISA 法检测妊娠 11~14 周孕妇血清 PAPP-A 水平,并跟踪至妊娠终止,对所得数据进行分析的结果显示,妊娠早期血清 PAPP-A 水平低的孕妇发生自发性早产的风险及可能性增加,两者呈正相关($r=0.964$, $P<0.05$),因此认为,妊娠早期血清 PAPP-A 水平过低,可能存在胎盘滋养层功能受损,从而导致自发性早产,妊娠早期血清 PAPP-A 水平的测定可能对预防自发性早产有所帮助。Marttala 等^[10]进行的一项注册研究显示,研究组 921 例妇女 PAPP-A ≤ 0.3 MoM,对照组 18 615 例妇女 PAPP-A >0.3 MoM,其中研究组早产和死产例数分别为 35 例(3.8%)和 9 例(1.0%),而对照组分别为 213 例(1.1%)和 51 例(0.3%),因此,血清低水平的 PAPP-A 浓度是早产和死产一个危险因素。

3.4 PAPP-A 与唐氏综合征(DS) DS 又称 21 三体综合征,是人类最早发现且最常见的常染色体病。研究已证实,PAPP-A 是妊娠早期筛查 DS 的有效血清标志物,单项检测效果优于其他指标^[11]。双联检测以 PAPP-A+人绒毛膜促性腺激素 β 亚基(β -hCG)为最佳组合。但是,只测量 PAPP-A 和 β -hCG,当假阳性率为 5%时,检出率只有 69%。而单独测量胎儿颈后透明层(NT)对早期筛查 DS 也很有限,所以如果把两种方法结合起来就可以大大提高筛查的质量。因此可以认为,妊娠早

期联合检测血清 PAPP-A 和 β -hCG,再结合 NT 的测量,可作为妊娠早期筛查 DS 的常规检查项目,而 PAPP-A 则是妊娠早期 DS 筛查最有希望的一项指标^[12]。

3.5 PAPP-A 与妊高征 妊娠期高血压疾病是妊娠期常见的并发症,多发生于妊娠 20 周以后。Meloni 等^[13]的研究发现,测定 973 例单胎妊娠孕妇在孕期 11~13 周的血清 PAPP-A 浓度,其中 111 例发展为妊娠期高血压患者,对其孕早期测定的血清 PAPP-A 水平范围在 0.53~1.08 MoM 的患者再进行回归方程统计分析后,血清 PAPP-A<0.8 MoM 能够显著预测妊高征($P<0.01$,灵敏度 68%,特异度 68%),因此,孕早期血清 PAPP-A 水平的减低可能会潜在增加孕妇妊娠期高血压的风险。巴基斯坦医学院的研究发现,在孕早期 10~14 周时进行血清指标检测,虽然 β -HCG 值差异无统计学意义($P=0.882$),但子痫前期组血清 PAPP-A 水平明显低于对照组($P<0.01$)。因此,PAPP-A 的检测对于子痫前期的预测很有帮助^[14]。段嫦丽等^[15]采用酶联免疫吸附法分别测定对照组 60 例和 60 例妊娠期高血压孕妇血清 PAPP-A 水平,结果显示,子痫前期和子痫患者血清中 PAPP-A 水平显著高于对照组($P<0.01$),因此 PAPP-A 的检测对于妊娠期高血压的临床评估具有极高的应用价值。

3.6 PAPP-A 与心血管疾病 近年来,大量研究表明,PAPP-A 在心血管疾病中具有重要的应用价值。王绍欣等^[16]采用固相夹心酶联免疫法对 50 例急性心肌梗死(AMI)患者发病后 6~12 h(PCI 术前)以及术后各时段进行 PAPP-A 和 sCD40L 浓度检测并得出结论,AMI 患者血浆 PAPP-A 与 sCD40L 浓度明显升高,其峰值延迟甚至持续升高可能提示病情严重,二者浓度的动态变化对 AMI 患者 PCI 术后近期不良心脏事件及并发症的发生有一定预测价值。有学者研究表明,PAPP-A 是与 ACS 动脉粥样斑块不稳定性相关的血清学指标,胸痛患者血清 PAPP-A 浓度的升高说明有较高的死亡风险^[17]。另外还有研究发现,维持性血液透析(MHD)患者 PAPP-A 与左心室心肌质量指数(LVMI)呈正相关,与左室射血分数(EF)呈负相关,MHD 患者存在血清妊娠相关血浆 A 水平增高,血清 PAPP-A 水平可反映 LVMI 及左心室结构和功能变化,对左心室肥厚及左心室功能的评估有预测作用^[18]。

3.7 PAPP-A 与其他 凌丹芸等^[19]的研究发现,脑梗死组中血清 PAPP-A 及颈动脉内膜中层厚度(IMT)明显高于短暂脑缺血发作(TIA)组($P<0.05$),同时 PAPP-A 浓度与脑梗死面积呈正相关($r=0.345$, $P<0.05$)。因此,PAPP-A 对评估不同程度缺血性脑卒中是一个很好的生物学指标。有研究报道,健康人肾脏在肾小球显示 PAPP-A 特异性染色,并且这种染色在糖尿病肾病时明显增加,因此肾小球 PAPP-A 在人糖尿病肾病时高度表达。小鼠模型显示,PAPP-A 的缺失与抵抗糖尿病肾病发展相关联,这些数据表明,血清 PAPP-A 可作为糖尿病肾病一个潜在的治疗靶点^[20]。

4 结 语

综上所述,PAPP-A 作为最先从孕妇血清中分离出来的一种与妊娠相关联的大分子糖蛋白,随着对其理化特性、生物学功能的深入研究及检测方法的改进,PAPP-A 在高危妊娠的监护以及心血管疾病的评估预测都具有重要的临床意义,而其作用机制以及在其他疾病中的临床应用价值还有待进一步研究。

参考文献

[1] Lin TM, Calbert SP, Kiefer D, et al. Characterization of four hu-

man pregnancy-associated plasma protein[J]. Am J Obstet Gynecol, 1974, 118(2): 223-236.

[2] 李灵俊,陈淑莲,李向东,等.妊娠相关血浆蛋白 A 定量测定方法的建立[J]. 天津医药, 2010, 38(5): 356-359.

[3] 刘晓红.妊娠相关血浆蛋白 A 与异常妊娠的相关性研究[J]. 中国妇幼保健研究, 2011, 22(3): 340-341.

[4] 刘杰,刘丽晶,关郁,等.妊娠相关血浆蛋白-A、 β -HCG 在异位妊娠早期诊断中的应用价值[J]. 中国医药科学, 2013, 3(5): 15-16.

[5] 马赞,肖立志,龚颖萍,等.妊娠相关血浆蛋白-A 对早期未破裂输卵管妊娠的诊断价值[J]. 中国医师杂志, 2012, 14(12): 1644-1646.

[6] Imcha M, Egbase E, Ross G. PPO. 58 Outcome of Pregnancy with Low PAPP-A. Archives of disease in childhood[J]. Fetal and neonatal edition, 2014, 99 (Suppl 1): S169.

[7] 杨君,王慧玲,华方方.复发性流产与蜕膜组织中妊娠相关血浆蛋白 A 的关系研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(26): 3069-3071.

[8] Goetzinger KR, Cahill AG, Macones GA, et al. Association of first-trimester low PAPP-A levels with preterm birth[J]. Prenatal Diagnosis, 2010, 30(4): 309-313.

[9] 陈霞,周萍,傅艳玲,等.妊娠早期妊娠相关血浆蛋白 A 水平与自发性早产的关系研究[J]. 河北医药, 2010, 32(16): 2158-2159.

[10] Marttala J, Peuhkurinen S, Laitinen PGissler M et al. Low maternal PAPP-A is associated with small-for-gestational age newborns and stillbirths[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2010, 89(9): 1226-1228.

[11] Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. First and second trimester antenatal screening for Down' syndrome: the results of the serum. Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS) [J]. Health J Med Screen, 2003, 10(2): 56-104.

[12] 黄星,罗新.妊娠相关血浆蛋白 A 早期筛查唐氏综合征[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2010, 29(1): 39-40.

[13] Meloni P, D'Angeli I, Piazze J, et al. First trimester PAPP-A levels associated with early prediction of pregnancy induced hypertension[J]. Hypertens Pregnancy, 2009, 28(4): 361-368.

[14] Ozdamar O, Gun I, Keskin U, et al. The role of maternal serum beta-HCG and PAPP-A levels at gestational weeks 10 to 14 in the prediction of pre-eclampsia[J]. Pak J Med Sci, 2014, 30(3): 568-573.

[15] 段嫦丽,江敏,潘丽. PAPP-A 在妇产科妊娠期高血压临床的应用价值[J]. 中国实用医药, 2012, 7(11): 24-25.

[16] 王绍欣,杨丽,王宏运,等.急性心肌梗死患者血浆妊娠相关蛋白 A 与可溶性白细胞分化抗原配体变化及意义[J]. 中国心血管病研究, 2010, 8(6): 432-435.

[17] Kavsak PA, Wang X, Henderson M, et al. PAPP-A as a marker of increased long-term risk in patients with chest pain[J]. Clin Biochem, 2009, 42(10/11): 1012-1018.

[18] 蒙如庆,韦喆,覃勋,等.维持性血液透析患者妊娠相关血浆蛋白 A 水平与心脏结构和功能的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2014, 10(1): 1333-1335.

[19] 凌丹芸,曹国良,王传慧.妊娠相关血浆蛋白 A 与缺血性脑血管疾病的相关性研究[J]. 医学临床研究, 2014, 20(3): 462-464.

[20] Mader JR, Resch ZT, McLean GR, et al. Mice deficient in PAPP-A show resistance to the development of diabetic nephropathy [J]. J Endocrinol, 2013, 219(1): 51-58.